第10卷 第3期 动物学研究 Vol. 10, No. 3
1989年8月 ZOOLOGICAL RESEARCH Aug., 1989

细粒棘球绦虫原头蚴组织化学的观察

杨元清 张超威 尤纪青 郭惠芳 焦佩英 肖树华

（中国预防医学科学院寄生虫病研究所， 上海）

柴君杰 焦 伟

（新疆自治区地方病防治研究所，乌鲁木齐）

摘 要

本文对细粒棘球绦虫原头蚴的组织化学成份进行了较为系统和全面的观察，结果表明，该虫体内存在糖原、RNA、DNA、蛋白质结合的α-氨基、酪氨酸、色氨酸及组氨酸、碱性蛋白质、酸性粘多糖、胶原及网状纤维成分、AKP、ATP酶及ACP等生化物质。并对上述成分的定位，含量及其生理学的意义进行了重点讨论。

关键词：细粒棘球绦虫，原头蚴，钙质小体，糖原，核酸，蛋白质，AKP

细粒棘球绦虫病为人畜共患病，其原头蚴既可用来接种动物以评价抗包虫药的效果，又能成为继发性棘球蚴病的主要原因，故在药物筛选及医学临床方面均具有重要性。迄目前为止，对原头蚴的化学组成虽曾有Cameron等(1925)及Kilejian等（1961）分别作过研究，但对人类关系较为密切的绵羊株原头蚴体内生化物质的种类及定位，至今仅作者等（杨元清等，1987）作过报道。为此，我们应用组织化学的方法，继续深入地对该虫的化学成分进行较为系统和详细的观察，希图作为了解该株原头蚴的生理、生化特点以及判断抗包虫药作用时的借鉴（杨元清等，1988）。

材料和方法

细粒棘球绦虫原头蚴的来源与处理：系从乌鲁木齐屠宰场刚宰杀的绵羊肝脏中的细粒棘球蚴囊内收集，将自然沉淀的原头蚴，经亨氏一盐平衡液洗涤4次后，立即分别用无水酒精、冷丙酮及10％中性福尔马林固定，用石蜡包埋，制成厚度为7—10μm的连续切片。

世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心陈鼎同志协助显微摄影，谨致谢忱。
本文1988年2月29日收到，1988年5月24日修回。

组织化学观察：将切片按Hotchkiss的PAS法显示糖原；Brachet的甲基绿—派若宁法及Feulgen法分别显示RNA及DNA；茚三酮—Schiff反映以及Danielli的偶联四氮法依次显示蛋白质结合的α—氨基以及酪氨酸、色氨酸和组氨酸；Mazia等溴酚蓝水溶液法显示碱性蛋白质；Alcian蓝法显示酸性粘多糖；Mallory氏及Foot氏法分别显示胶原纤维及网状纤维；Gomori的钙—钴法及硫化铅法分别显示AKP及ACP；Padykula-Herman的钙法显示ATP酶。上述内容均参照以往工作并作方法对照（杨元清等，1982；杨元清等，1984）。每一指标均观察原头蚴切面50—60个，用光学显微镜系统确定原头蚴体内上述组织化学成分的定位，并以染色深浅及反应程度来判别其含量及强弱。

观察结果

1、糖原：原头蚴的实质组织内含有较多的糖原，特别是吸盘及喙垫部分为最丰富，颗粒粗大，分布致密（图版Ⅰ、1），肌层较薄，故含量较少，皮层及头钩内的则为阴性，而皮层外膜及钙质小体虽对PAS呈现阳性反应，但经淀粉酶消化后仍不消失，因而证实为非糖原物质。

2、RNA：虫体内的RNA主要分布于实质细胞及肌层内，但以吸盘及喙垫部的较为丰富（图版Ⅰ、2），皮层及头钩内均为阴性，钙质小体的较少。

3、DNA：原头蚴体内的DNA主要定位于实质细胞核的核膜及染色质颗粒内，由于喙垫及吸盘内的实质细胞较多，且排列较为致密，故DNA的含量较体部的为丰富（图3版Ⅰ、3），钙质小体内显示较弱的Feulgen阳性反应，而皮层、肌层及头钩内的均为阴性。

4、蛋白质结合的α—氨基：虫体的蛋白质结合α—氨基以皮层内的为最丰富(图版Ⅰ、4)，小实质细胞内的含量为中等，大实质细胞、肌层及钙质小体内的为少量，头钩则为阴性，喙垫及吸盘内以实质细胞较为密集，故含量较体部的为丰富。

5、蛋白质结合的酪氨酸、色氨酸及组氨酸：原头蚴的皮层及小实质细胞内均含有较为丰富的上述三种氨基酸、肌层及大实质细胞内的为中等，基于喙垫及吸盘部的小实质细胞分布较为致密，故含量较体部的为高，钙质小体为少至中等量，头钩皮质内的含量与钙质小体内的相似，但髓质内的则极微(图版Ⅰ、5)。

6、碱性蛋白质：虫体皮层及小实质细胞内的碱性蛋白质含量均相当丰富，肌层及大实质细胞内则为少至中等量，吸盘及喙垫内以实质细胞较多故含量较体部的为高，钙质小体内为中等，而头钩内的则为阴性(图版Ⅰ、6)。

7、酸性粘多糖：原头蚴体内的酸性粘多糖主要定位于头钩的皮质及钙质小体内，但以前者的含量较为丰富，而后者仅仅少至中等量，其余部分均为阴性(图版Ⅰ、7)。

8、胶原纤维：原头蚴的实质组织内示有少量纤细的胶原纤维，皮层、头钩皮质及钙质小体的胶原成分含量极微或无(图版Ⅰ、8)，其余组织内均不存在胶原成分。

9、网状纤维：虫体皮层的外膜及头钩皮质外膜内均含有极为丰富的网状纤维成分，钙质小体内的含量为中等或丰富，原头蚴的实质组织及肌层内均未查见网状纤维成分(图版Ⅰ、9)。

10、AKP：虫体内的 AKP 活力以皮层及钙质小体内的较强，实质细胞内的极弱，肌层及头钩内均为阴性，钙质小体内以边缘部的较强，少数的钙质小体呈现深黑色，提示有很强的酶活力（图版 I 、10）。

11、ACP：原头蚴的钙质小体内示有弱至中等强度的酶活力，其余部分均呈阴性反应（图版 I 、11）。

12、ATP酶：虫体皮层内的 ATP 酶活力以吸盘部位的较强，喙垫及体部的较弱，肌层内的为中等强度，钙质小体内的为中等至强阳性反应，而实质细胞内的极弱（图版 I 、12），头钩内的则为阴性。

讨　　论

本文的观察结果表明，绵羊株原头蚴体内的糖原相当丰富，其分布与 Kilejian（1661）报道的牛株原头蚴内的基本一致，值得提出的是原头蚴体内的糖原分布以吸盘部分的为最丰富，糖原为原头蚴的主要能量来源（Agosin 等，1957；McManus，1978），其在原头蚴体内的这种分布特点，显然与尔后幼虫在中间宿主（杨元清等，1988）以及在终宿主内吸附器官时需要有较其它部分提供更多的能量来源有关（Thompson，1986）。

原头蚴的体内含有相当丰富的DNA及RNA，这与Fragh（1980）应用生化分析方法所取得的结果较为吻合，本文还进一步证实上述两种生化物质主要分别存在于虫体实质细胞的胞核及胞质内，核酸为细胞进行分裂增殖的主要生命物质，原头蚴体内的核酸主要定位于实质细胞内的事实，提示这种细胞很可能是幼虫生理上最活跃的细胞，它与后尔原头蚴的生长发育有着非常密切的关系（Kilejian 等，1961；Bogitsh，1963；杨元清等，1988）。

头钩的作用是帮助原头蚴固定于宿主的组织（Thompson，1986）。曾有人用生物化学的方法证明其为一种在某些方面与脊椎动物不同的角蛋白，且不被数种蛋白酶所消化（Gallagher，1964）。本文应用组织化学技术，还发现原头蚴头钩内含有蛋白质结合的酪氨酸、色氨酸、组氨酸、酸性粘多糖、胶原及网状纤维成分，说明头钩内的化学成分较为复杂，至于这些生化物质存在于头钩内的生理学意义，很可能与加固并增强头钩的坚韧性有密切关系（Lincicome，1953；上海第一医学院，1979）。

绦虫体内钙质小体的生理功能，目前还不十分清楚，但有的作者认为与绦虫自身调节所处环境中的pH有关（Smyth，1969；von Brand 等，1960）。但本文，von Brand等（1960），Chowdhury等（1955），及 Chowdhury 等（1962）均发现原头蚴的钙质小体内存在核酸、蛋白质、糖类、脂肪及酶类等生化物质。体外观察的结果又表明原头蚴体内的钙质小体在培养 7 — 8 天后即逐渐消失（Thompson，1986），提示绦虫幼虫体内的这种结构，除了具有缓冲系统的功能外（Thompson，1986），很可能还与原头蚴在尔后形成生发层的过程中、需要消耗包括钙质小体在内的实质组织内所含的大量糖类、核酸及蛋白质等有密切关系（杨元清等，1988）。

原头蚴体内的 AKP 活力主要定位于虫体的皮层部位，这对缺乏消化道结构的绦虫

来讲是具有十分重要的生理学意义。目前的知识认为蠕虫体内的AKP活力与虫对宿主体内葡萄糖的吸收，转运及利用有密切关系（Roger，1947；Fripp，1967）。因而，原头蚴体内AKP活力定位的上述特点，说明皮层可能是虫体摄取囊液中葡萄糖的唯一途径。

图 版 Ⅰ 说 明

Yang Yuanqing *et al*, Observation on Histochemistry of protoscolex of ***Echinococcus granulosus***

Fig. 1. Distribution of glycogen in protoscolex, ×400 PAS reaction (Hotchkiss). Fig. 2. Distribution of RNA in protoscolex. × 400 Methyl green-pyronin (Brachet). Fig. 3. Distribution of DNA in protoscolex. × 400 Feulgen reaction. Fig. 4. Distribution of proteinbound α- amino groups in protoscolex. × 400 Ninhydrin- Schiff reaction. Fig. 5. Distribution of protein-bound tyrosine, tryptophan histidine in protoscolex. × 400 The coupled tetrazonium reaction. (Danielli). Fig. 6. Distribution of alkaline protein in protoscolex. × 400 Bromphenol blue method (Mazia). Fig. 7. Distrubution of acid mucopolysaccharide in protoscolex, × 400 Alcian blue method. Fig. 8. Distribution of collagen fiber element in protoscolex. × 400 Mallory's method. Fig. 9. Distribution of reticular fiber element in protoscolex. × 400 Foot's method. Fig. 10. Activity of AKP in protoscolex. × 400 Ca-Co method (Gomori). Fig. 11. Activity of ACP in protoscolex. × 400 Lead sulfide method (Gomori). 12. Activity of ATPase in protoscolex. × 400 Calcium method (Padykula-Herman).

参 考 文 献

杨元清，1982 棉鼠丝虫组织化学的观察。动物学报 28（4）：356。

杨元清等，1984 吡喹酮对致敏小鼠肺中日本血吸虫卵内茅肿的影响。中国医学科学院学报 6（3）：217。

杨元清等，1987 细粒棘球蚴的组织学及组织化学观察。地方病通报 2（4）：36。

杨元清等，1988 吡喹酮对体外细粒棘球绦虫原头蚴作用机制的初步探讨，地方病通报 3（3）：67

杨元清等，1988 细粒棘球绦虫原头蚴在NIH株小鼠体内发育的组织学及宿主细胞反应观察。地方病通报3（2）：89。

杨元清等，1988 细粒棘球绦虫原头蚴在NIH株小鼠体内发育的组化织化学研究。地方病通报3（2）：43。

上海第一医学院主编，1979组织胚胎学p. 39。

Agosin, M. *et al* 1957 Studies on the metabolism of *Echinococcus granulosus* I. General chemical composition and respiratory reactions. *Exp Parasitol* 6 (1): 37.

Bogitsh, B. J. 1963 Histochemical studies on ***Hymenolepis microstoma*** (Cestoda: Hymenolepididae). *J Parasitol* 49(6): 989.

Cameron, G. *et al* 1925 The hydatid cyst* The micro-chemical reactions of the hydatid cyst wall. *Am J Pathol* 1: 227.

Chowdhury, A. B. *et al* 1955 Kernechtrot or nuclear fast red in the histochemical detection of calcarecus corpuscles in *Taenia saginata*. *Nature* 176(4484): 701.

Chowdhury, A. B *et al* 1962 On the nature and the structure of the calcareous corpuscles in *Taenia saginata*. *Parasitol* 52(1, 2): 153.

Fripp, P. J 1967 The sites of (1-^{14}C) glucose assimilation in *Schistosoma haematobium*. *Comp Biochem Physiol* 23 (3): 893.

Fragha, G. J. *et al* 1980 Comparative chemical composition of protoscolices and hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus* (Cestoda). *Int J Parasitol* 10(5/6): 359.

Gallagher, I. H. C 1964 Chemical composition of hooks isolated from hydatid scolices. *Exp Parasitol* 15 (2): 110.

Kilejian, A. *et al* 1961 Host-parasite relationships in Echinococcosis. V. Histochemical observations on *Echinococcus granulosus*. *J Parasitol* 47(2): 181.

Lincicome, D. R 1953 A streptococcal decapsulation test for detection of hyaluronidase activity in animal parasites 2(4): 333.

McManus, D. P. *et al* 1978 Differences in the chemical composition and carbohydrate metabolism of *Echinococcus granulosus* horse and sheep strains) and *E. multilocularis*. *Parasitol* 77(1): 103.

Roger, W. P 1947 Histological distribution of alkaline phosphatase in helminth parasites. *Nature* 159(4037): 374.

Smyth, J. D 1969a The physiology of cestodes. Edinburgh: Oliver & Boyd.

Thompson, R. C. A 1986 1. Biology and systematics of echinococcus. The biology of echinococcus and hydatid disease. p. 5 London George Allen & Unwin (Publishers) Ltd.

Von Brand, T. *et al* 1960 Observations on the function, composition and structure of cestoda calcareous corpuscles. *Exp Parasitol* 9(3): 205.

OBSERVATION ON THE HISTOCHEMISTRY OF PROTOSCOLEX OF *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*

Yang Yuanqing　Zhang Chaowei　You Jiqing
Guo Huifang　Jiao Peiying　Xiao Shuhua

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine)*

Chai Junjie　Jiao Wei

(Xinjiang Institute for Endemic Disease Control and Research)

The biochemical substances in protoscolex of *Echinococcus granulosus* were investigated systematically by histochemical techniques.

It was showed that glycogen, RNA, DNA, protein bound α-amino groups, tyrosine, tryptophan, histidine, alkaline protein, acid mucopolysaccharides, collagenous fibers, reticular fibers, activities of AKP, ACP and ATPase were detected at various levels in protoscoleces of *Echinococcus granulosus*.

The content of glycogen was rich in parenchymal tissue of larva. RNA and DNA were mainly located in cytoplasm and cell nucleus, respectively. The content of protein bound α-amino groups, tyrosine, tryptophan, histidine and alkaline protein were very rich in tegument and small parenchymal cells. Both the activities of AKP and ATPase were very strong in tegument of protoscoleces. The hooks were contained heavy acid mucopolysaccharides and reticular fiber element and moderate contents of protein bound tyrosine, tryptophan and

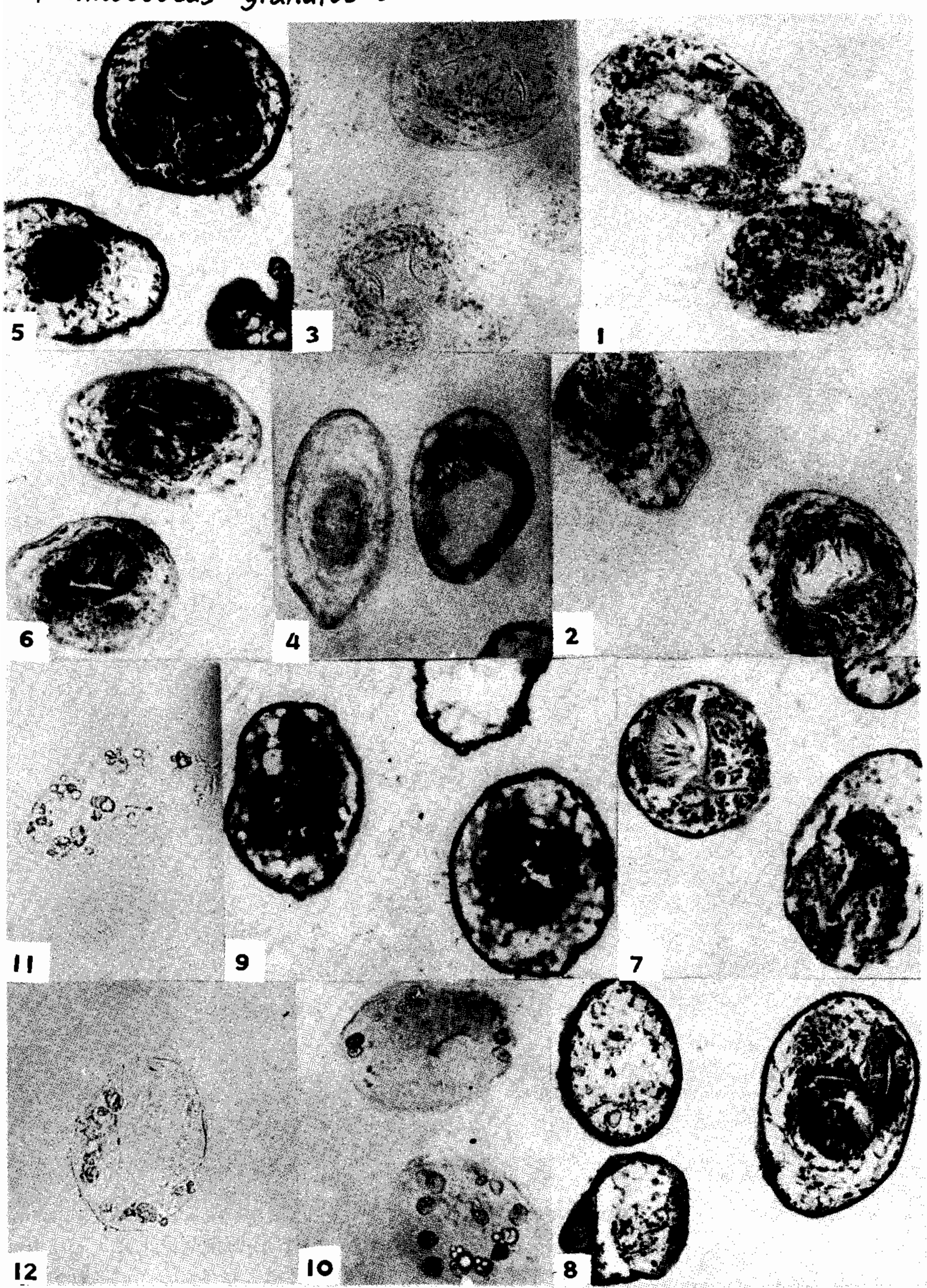
histidine. The collagenous fibers were noly presented in parenchymal tissue of larva. Some content of PAS positive material, RNA, DNA, protein bound α-amino groups, tyrosine, tryptophan and histidine, alkaline protein, acid mucopolysaccharides, collagenous and reticular fiber element, AKP, ACP and ATPase were found in calcareous corpuscles of protoscoleces.

The physiological significance of biochemical substances presented in protoscoleces obtained from sheep was discussed briefly.

Key words: *Echinococcus granulosus*, protoscolex, calcareous corpuscle, glycogen, nuclear acid, protein, AKP.

*WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis.

Yuan Yuanqing *et al*: Obsevation on Histochemistry of Protoscoieh of *Echinococcus granulosus*



图版说明见正文